



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Neurologia

Envolvimento do sistema nervoso central em “Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies”

Diogo Afonso Figueiredo de Lima

Julho de 2020

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Neurologia

Envolvimento do sistema nervoso central em “Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies”

Diogo Afonso Figueiredo de Lima

Orientado por:

Prof. Doutor Mamede de Carvalho

Julho de 2020

Resumo

“Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies” (HNPP) é uma doença genética de expressão autossômica dominante, causada por mutações do gene “*Peripheral Myelin Protein 22* (PMP22)”. Nesta condição clínica, os nervos periféricos são lesados quando sujeitos a compressões ligeiras, causando períodos transitórios e recorrentes de sintomas focais motores e/ou sensitivos no território dos nervos periféricos afetados.

Apesar de HNPP ter uma clara expressão no sistema nervoso periférico, inúmeros estudos apontam também para um possível envolvimento do sistema nervoso central (SNC) na doença. A propósito de um caso clínico, o objetivo deste trabalho é apresentar e discutir todas as evidências a favor dessa hipótese.

A expressão do PMP22 mRNA e da proteína na mielina do SNC das pessoas sugere uma função importante do gene na manutenção e na função da mielina do SNC. A correlação entre o HNPP e a esquizofrenia é apoiada pelo menor nível de mRNA nas regiões relevantes do SNC em doentes esquizofrênicos, assim como a maior prevalência da deleção do gene em doentes esquizofrênicos. O prolongamento da latência dos potenciais evocados visuais (PEV) nos doentes com HNPP sugere uma disfunção da mielina da via ótica nesta doença. A presença de lesões multifocais hiperintensas no SNC detetadas na RM na ponderação T2 sugerem desmielinização e consolidam a hipótese de a mielina da substância branca estar envolvida em HNPP. A baixa anisotropia fraccional, detetada em torno das lesões indica modificações na microestrutura e demonstra que o envolvimento do SNC não se limita apenas aos focos hiperintensos detetados pela RM. A ausência de correlação entre o número de lesões, a idade do doente e a duração da doença obscurece a hipótese de as lesões terem um padrão evolutivo. Doentes com HNPP apresentam também alterações metabólicas no SNC.

Os resultados evidenciam um envolvimento do SNC em HNPP. Recomenda-se a realização de estudos com uma amostra maior, de forma a comprovar todos os resultados reportados na literatura e para consolidar os achados menos consensuais.

Palavras-chave: Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies, HNPP, PMP22, Sistema nervoso central, Esquizofrenia.

“O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML”

Abstract

“Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies” (HNPP) is a genetic disease, expressed in an autosomal dominant manner, caused by mutations from the gene “*Peripheral Myelin Protein 22 (PMP22)*”. In this clinical condition, peripheral nerves are damaged when subjected to minor compressions, causing limited and recurrent periods of motor and/or sensitive symptoms in the affected peripheral nerve territories.

Although HNPP has a clear expression in the peripheral nervous system, numerous studies suggest a possible involvement of the central nervous system (CNS) as well. Regarding a clinical case, the dissertation’s objective is to present and discuss all the evidence in favor of this possibility.

PMP22 mRNA and protein expression in the human’s CNS myelin suggests the gene’s important role in its maintenance and function. A correlation between HNPP and schizophrenia is supported by the smaller level of mRNA in CNS relevant regions in schizophrenic patients, as well as a bigger prevalence of the gene’s deletion in schizophrenic patients. The increased latency of visual evoked potentials in HNPP patients indicates a myelin disfunction in the optic tract within this disease. The presence of hyperintense multifocal lesions in the CNS detected by magnetic resonance imaging (MRI) T2-weighted images demonstrates demyelination and consolidates the hypothesis that the white matter’s myelin is involved in HNPP. Reduced fractional anisotropy detected around the injuries shows microstructure modifications and signals that the CNS’s involvement isn’t limited to the hyperintense lesions detected by MRI. The absence of correlation between the number of injuries, the patients’ age and the disease’s duration diminishes the possibility of the lesions having an evolutionary pattern. HNPP patients also present CNS metabolic modifications.

The results demonstrate CNS involvement in HNPP. Studies with a bigger sample of patients are recommended, in order to prove all the results reported in the literature and to consolidate less consensual findings.

Keywords: Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies, HNPP, PMP22, Central nervous system, Schizophrenia.

"The following work expresses the author’s opinion and not the university’s"

Índice

Introdução	6
Vinheta Clínica	7
Expressão do PMP22 no sistema nervoso central	8
Alterações no sistema nervoso central.....	10
Associação entre HNPP e Esquizofrenia.....	14
Discussão	16
Agradecimentos	17
Referências Bibliográficas.....	18

Introdução

“Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies” (HNPP) é uma doença genética de expressão autossômica dominante, causada por mutações do gene “*Peripheral Myelin Protein 22 (PMP22)*”, localizado no cromossoma 17p11.2 ^[1]. Nesta condição clínica, os nervos periféricos são lesados quando sujeitos a compressões ligeiras, causando períodos transitórios e recorrentes de sintomas focais motores e/ou sensitivos no território dos nervos periféricos afetados ^[2].

Existem estudos que relatam uma prevalência de 7,3/100.000 a 16/100.000 ^[3, 4]. Trata-se, no entanto, de uma doença subdiagnosticada, devido à sintomatologia ligeira existente em muitos casos, pelo que a prevalência deverá ser superior a estes valores.

O gene codifica a proteína PMP22, que participa na constituição de 2 a 5% da mielina do sistema nervoso periférico. É produzida maioritariamente pelas células de Schwann e é expressa na porção compacta de todas as fibras de mielina do sistema nervoso periférico. A função exata do gene ainda é desconhecida. Estudos em nervos lesados sugerem um papel no crescimento e diferenciação das células de Schwann ^[5]. Doentes com HNPP apresentam uma quantidade diminuída da proteína PMP22 ^[6], bem como uma redução dos níveis de expressão do PMP22 mRNA ^[7], os quais se correlacionam com o fenótipo do doente ^[8].

Os episódios sintomatológicos da doença podem caracterizar-se por parestesias, fraqueza muscular e atrofia e são precedidos, geralmente, por compressão ou trauma menor do nervo afetado ^[9]. Os primeiros sintomas surgem, geralmente, na segunda ou terceira década de vida, embora possam ocorrer desde a infância ^[4, 10], até à oitava década de vida ^[2, 4, 11, 12]. Os sintomas desaparecem, tipicamente, após dias ou semanas ^[9]. A recuperação completa ocorre em 50% dos casos e os sintomas que permanecem são raramente graves ^[13]. Também estão descritos sintomas crónicos, como câibras, parestesias e mialgias induzidas pelo exercício físico ^[12]. No entanto, o quadro clínico dos doentes com HNPP é muito diverso. Estudos demonstram que 6-23% dos familiares dos doentes são assintomáticos ^[2, 11, 12]. Nos casos mais graves, em 10-15% dos doentes, persistem marcados défices motores, após cada agudização ^[2, 11, 12].

Apesar de HNPP ter uma clara expressão no sistema nervoso periférico, inúmeros estudos apontam também para um possível envolvimento do sistema nervoso central (SNC) na

doença. A propósito de um caso clínico, o objetivo deste trabalho é apresentar e discutir todas as evidências a favor dessa hipótese.

Vinheta Clínica

Um médico de 34 anos recorre à consulta de doenças neuromusculares por pé pendente à esquerda, que notou repentinamente ao acordar, há cerca de 5 semanas, sem dor ou outras queixas sensitivas, e sem aparentes fatores desencadeantes. Durante este período, tem notado ligeira melhoria clínica, e nega outros sintomas que se tenham manifestado naquele intervalo de tempo.

A história pessoal é irrelevante, sendo saudável e não medicado. Refuta episódios de parésia no passado. Nega cirurgias prévias ou acidentes, em particular envolvendo fraturas. Nega tabagismo, toma de sedativos, alcoolismo ou perda de peso. Atividade física regular no ginásio, em particular corrida na passadeira e musculação. Pais vivos e saudáveis, não consanguíneos, pai com 63 anos e mãe com 60 anos, sem antecedentes relevantes. Tem uma irmã mais nova e saudável (29 anos) e dois filhos (de 3 e 5 anos) sem qualquer problema médico. Desconhece doenças neurológicas na família.

À observação é notório pé parcialmente pendente à esquerda (grau 2/5) com plegia da extensão do halux. A força está conservada nos restantes segmentos, em particular a inversão e flexão plantar do pé esquerdo. Os reflexos osteo-tendinosos são globalmente fracos e simétricos, com ausência dos reflexos aquilianos. A sensibilidade profunda (posicional e vibratória) é normal, em particular nos segmentos distais dos membros inferiores, mas o estudo da sensibilidade nociceptiva deteta uma zona de hipoestesia na região dorsal do pé esquerdo. O tono muscular é normal, e a resposta plantar em flexão. A coordenação dos membros superiores e inferiores é normal, tal como o estudo dos pares cranianos. Sem perturbação cognitiva.

O estudo das velocidades de condução revela ligeira redução das velocidades de condução motoras, com atraso moderado das latências das ondas F (nervos cubitais, medianos, peroneais e tibiais posteriores), com aumento das latências distais dos nervos medianos, e lentificação das velocidades de condução dos nervos cubitais nos cotovelos e dos nervos peroneais nos colos do perónio, sendo a lentificação mais acentuada no nervo peroneal esquerdo, no qual se observa bloqueio parcial de condução naquele local de “entrapment”.

As amplitudes das respostas sensitivas estão no limite inferior da normalidade nos membros superiores (medianos e radiais) e anormais nos membros inferiores (peroneais e safenos externos).

Foi estabelecido o diagnóstico clínico de HNPP. O estudo genético confirmou deleção no gene PMP22.

O doente manifestou preocupação sobre eventual envolvimento do sistema nervoso central nesta doença.

Expressão do PMP22 no sistema nervoso central

Em 1992, Snipes et al. ^[5] estudaram a expressão da proteína de 22 kDa, previamente designada como SR13, nas fibras de mielina do sistema nervoso periférico e do SNC no modelo animal (ratinhos). Os autores encontraram níveis apreciáveis de mRNA no encéfalo, mas não detetaram a presença da proteína no mesmo local. Por outro lado, os valores de mRNA e da proteína encontrados em preparados do sistema nervoso periférico eram marcadamente superiores. Deste modo, foi proposto que a proteína SR13 era exclusivamente expressa nas células de Schwann da mielina no sistema nervoso periférico. Foi também proposta a alteração do seu nome para “*Peripheral Myelin Protein 22 (PMP22)*”.

No mesmo modelo, posteriormente mostrou-se que a proteína e o seu mRNA são expressos não só nas células de Schwann, como também nos neurónios motores de pares cranianos e dos nervos espinhais. Os autores sugeriram que PMP22 pode ter um papel nas interações entre os axónios motores e as células de Schwann ^[14].

Em 2006, Ohsawa et al. ^[15] estudaram no ser humano a expressão do gene PMP22 no SNC. Recorrendo a uma análise de PMP22 mRNA com o *Northern Blot*, os autores encontraram níveis significativos de mRNA total em todas as partes do encéfalo examinadas (cerebelo, córtex cerebral, lobos frontal, temporal e occipital, bulbo raquidiano, putámen, núcleo caudado, amígdala, corpo caloso, hipocampo e tálamo), bem como na medula espinhal. O transcripto do gene associado à formação das células de Schwann (exão 1A) foi observado no bulbo raquidiano, medula espinhal e corpo caloso. Os autores sugeriram que o nível elevado no bulbo raquidiano e medula espinhal se devia provavelmente à presença nos pares cranianos e nas raízes ventrais ou dorsais nas

amostras estudadas. Por outro lado, não souberam explicar a presença no corpo caloso. Para confirmar a expressão de PMP22 no SNC humano, realizaram uma RT-PCR usando RNA total do lobo frontal. O transcripto exão 1A foi novamente detetado. Foi ainda estudada a localização do PMP22 em tecidos nervosos humanos por imunohistoquímica. Referiram imunorreatividade no citoplasma de neurónios motores e simpáticos pré-ganglionares na medula espinhal, bem como na pia-máter. Os autores especularam que PMP22 poderia servir como fator de adesão na pia-máter. Em suma, Ohsawa et al. concluíram que PMP22 é significativamente expressa no SNC humano.

Em 2010, Gasperi et al.^[16] examinaram, novamente, a expressão da proteína PMP22 no SNC. Inicialmente, estudaram a sua expressão no encéfalo no modelo animal por *Western Blotting*. A proteína não foi detetada num homogenato de 100 µg de proteínas do encéfalo. No entanto, foi encontrada numa preparação com 25 µg de mielina isolada a partir do encéfalo, apesar dos níveis terem sido consideravelmente mais baixos que os encontrados no controlo positivo (nervo ciático). Para comprovar a expressão de PMP22 na substância branca do SNC, foram criadas duas preparações de mielina, a partir do encéfalo e prosencéfalo e analisadas com dois anticorpos policlonais. O *Western blot* demonstrou a presença da proteína em ambos os preparados. A seguir, determinaram a expressão da proteína no encéfalo humano, recorrendo a três amostras de mielina isoladas de indivíduos diferentes. Em cada uma das preparações, foi observada uma banda que migrou mais lentamente, comparativamente à amostra com mielina do encéfalo de um rato. A observação foi consistente com estudos prévios que indicavam que a proteína humana apresentava uma mobilidade inferior à proteína do rato^[17]. Para demonstrar que a proteína *core* do PMP22 estava presente, os extratos de mielina foram tratados com PNGase F, que remove a cadeia oligossacárida da glicoproteína. O resultado foi o desaparecimento da banda de 22 kDa e o surgimento de uma banda de 18 kDa, tamanho da proteína *core*. O padrão foi consistente com as três amostras humanas, bem como a amostra do ratinho. Os autores concluíram que a proteína PMP22 é expressa na substância branca, tanto no modelo animal, como no ser humano, sugerindo que a proteína poderá ter um papel na manutenção e na função da mielina no SNC.

Alterações no sistema nervoso central

Em 2000, Schneider et al. ^[18] estudaram o envolvimento da via ótica e auditiva em HNPP, num grupo de três familiares diagnosticados com a doença. A avaliação foi feita através da medição da latência do potencial evocado visual (PEV) e auditivo (PEA) em cada sujeito. Dois dos indivíduos apresentaram PEVs anormais. O primeiro, com 37 anos, evidenciou uma latência ligeiramente prolongada, bilateralmente, com amplitudes normais. Segundo os autores, a alteração poderia indicar um processo de desmielinização na via ótica. Além disso, a ressonância magnética (RM) revelou dois focos hiperintensos na ponderação T2, localizados na substância branca subcortical e no tronco cerebral. Já o segundo doente, com 80 anos e história de hipertensão arterial controlada desde há 10 anos, revelou um prolongamento bilateral da latência do PEV, bem como uma diferença marcada entre a via ótica direita e esquerda. Como a latência e a variabilidade deste parâmetro podem aumentar com a idade, os autores sugeriram que as alterações observadas poderiam estar parcialmente associadas com a idade ou com a hipertensão. O terceiro doente, com 5 anos, não apresentou qualquer alteração nos parâmetros visuais. Os três familiares revelaram PEAs normais. Os autores concluíram, com base nos PEVs anormais, que HNPP pode condicionar um ligeiro envolvimento da mielina do SNC.

Em 2000, Muneuchi et al. ^[19] relataram o caso de uma criança de 7 anos com diarreia, seguida por febre, incontinência urinária, alteração da marcha e letargia. A RM revelou lesões multifocais hiperintensas na ponderação T2 que apoiaram o diagnóstico de encefalomielite disseminada aguda. A mãe tinha HNPP e a criança foi também diagnosticada com a doença, mais tarde. Apesar da possível coincidência, os autores não excluíram a hipótese de um doente com HNPP poder apresentar uma maior suscetibilidade para doenças autoimunes do SNC, pelo facto da desmielinização e destruição da mielina poder induzir respostas autoimunes.

Sanahuja et al. ^[20] descreveram uma família de 18 membros com HNPP e desmielinização no SNC. A investigação clínica e/ou eletrofisiológica confirmou o diagnóstico em 9 membros da família. Os autores investigaram o envolvimento do SNC em todos os indivíduos. A maioria dos doentes tinha a forma clássica da doença, sem aparentes queixas de causa central. Apenas uma doente referiu queixas de acordo com lesão hemisférica, com 2 episódios de hemiparésia. No entanto, esta doente tinha também história de hipertensão arterial não medicada. Foram realizadas RM em 6 indivíduos com a doença e 2 indivíduos saudáveis. O exame revelou múltiplos focos de desmielinização

na ponderação T2 em todos os 6 doentes, sem evidência de alterações nos 2 familiares saudáveis. As anormalidades foram encontradas predominantemente na substância branca subcortical frontal. Além disso, não encontraram uma correlação entre o número de lesões e a idade dos doentes. Um dos 6 doentes efetuou uma nova RM 4 anos mais tarde, que confirmou o mesmo número de lesões. Os autores sugeriram que a deleção do PMP22 pode afetar a mielina do SNC, não só pela presença de lesões em todos os doentes examinados, como também pela ausência de lesões nos membros não afetados. As lesões encontradas eram, no entanto, silenciosas na maioria dos doentes. Para mais, os autores não puderam provar a associação entre o quadro de hemiparésia e a deleção do PMP22, no doente afectado, devido à sua hipertensão arterial não medicada.

Em 2006, Tackenberg et al. ^[21] realizaram uma investigação eletrofisiológica e neurorradiológica num grupo com HNPP e outro grupo de controlo. Estudaram a latência dos reflexos mandibular, córneo e do período de supressão exteroceetivo (ESP - reflexo do tronco cerebral que inibe o núcleo motor do trigémio, após estimulação nociceptiva de ramos aferentes do mesmo nervo). Avaliaram também a latência dos PEVs e PEAs, bem como dos potenciais evocados motores dos nervos trigémio, facial e espinhal. Os autores reportaram um prolongamento significativo das latências do reflexo córneo, dos PEAs e do período 2 de supressão exteroceetivo (ESP2), nos doentes com HNPP. Não detetaram diferenças significativas nos restantes parâmetros. Em complemento, foram realizados estudos de RM em 7 doentes com HNPP. Deste grupo, 4 revelaram lesões focais hiperintensas na ponderação T2, sugestivas de desmielinização. 2 desses doentes, sem qualquer parentesco, demonstraram um padrão similar, com alterações na região mesotemporal. Os autores sugeriram que a doença pode causar alterações na mielina do tronco cerebral. Além disso, defenderam que as alterações nas RM fortalecem a hipótese de haver envolvimento subclínico da substância branca em doentes com HNPP. Alterações na condução dos nervos periféricos foram, segundo os autores, improváveis de terem contribuído para as anormalidades, porque as latências dos potenciais evocados motores foram todas normais. Por fim, defenderam que a boa sensibilidade e especificidade do reflexo córneo, PEAs e ESP2 podem ser úteis no estudo eletrofisiológico da doença.

Iwasaki et al. ^[22] reportaram um caso clínico com aparente envolvimento dos pares cranianos na doença. A doente de 40 anos com HNPP tinha disestesia na região frontal esquerda, fraqueza bilateral dos músculos faciais e não conseguia realizar a protrusão da

língua, indicando lesão dos nervos trigémio, facial e hipoglosso. Tinha, também, um atraso no reflexo córneo, bilateralmente, bem como uma RM normal.

Em 2012, Chanson et al. ^[23] realizaram outro estudo sobre alterações no SNC em doentes com mutações no PMP22. Analisaram o volume de substância cinzenta e branca e procuraram alterações metabólicas, recorrendo à espectroscopia. Estudaram, ainda, alterações da arquitetura da mielina, através da medição da anisotropia fraccionada. Os autores detetaram uma diminuição significativa do volume de substância branca em 71% dos doentes com HNPP, uma redução dos níveis de creatina na substância branca em 21% e alterações cognitivas em 64%. O envolvimento do SNC, definido no estudo como a existência de pelo menos um destes 3 parâmetros alterados, estava presente em 87% dos doentes. Se se considerar apenas anormais doentes com pelo menos 2 parâmetros alterados, o valor muda para 47%. A anisotropia fraccionada revelou apenas alterações significativas no tálamo direito dos doentes com HNPP. Os autores admitiram várias limitações no estudo, nomeadamente o pequeno tamanho dos grupos avaliados e o risco de um resultado falso positivo associado a cada um dos 3 parâmetros. Referiram também que teria sido interessante criar um grupo de controlo com outras neuropatias crónicas no estudo. No entanto, não conseguiram torná-lo num grupo homogéneo e relevante. Em suma, concluíram que HNPP não afeta exclusivamente o sistema nervoso periférico, havendo também um envolvimento ligeiro do SNC, caracterizado por alterações cognitivas e redução do volume de substância branca.

Knopp et al. ^[24] estudaram o envolvimento da via ótica e auditiva em diversas polineuropatias desmielinizantes, entre as quais HNPP. Avaliaram a latência dos PEVs e PEAs em 8 pessoas com esta doença e evidenciaram um prolongamento da latência dos PEVs em metade dos indivíduos. Por outro lado, apenas 2 doentes apresentaram uma latência anormal nos PEAs. Os resultados foram contrários aos de Tackenberg et al. ^[21] que reportaram alterações significativas nos PEAs e resultados normais nos PEVs. Neste estudo, apesar dos resultados terem apontado para um envolvimento subclínico do nervo ótico, os autores admitiram que poderá dever-se à pequena amostra.

Mais tarde, Wang et al. ^[25] analisaram, também, as lesões do SNC em doentes com HNPP. Além disso, estudaram o envolvimento da substância branca. Foram observadas lesões hiperintensas puntiformes em 50% dos doentes, a maioria evidenciada na substância branca subcortical frontal. Além dos focos hiperintensos encontrados nas RM, foram também detetadas inúmeras regiões de substância branca de aparência normal, mas com

anisotropia fraccionada diminuída. Ao contrário de Chanson et al. ^[23], a maioria dessas lesões localizavam-se na substância branca subcortical frontal. Os autores não evidenciaram nenhuma correlação entre os achados das RM, a idade dos doentes e a duração da doença, tal como Sanahuja et al. ^[20] já tinham referido. Sugeriram, ainda, que a extensão das lesões não aumentou com a idade. Referiram várias limitações do estudo, como a ausência de confirmação patológica. Além disso, apenas foram selecionados doentes sintomáticos, o que excluiu pacientes numa fase inicial da doença. Por fim, não foram estudadas as alterações dinâmicas nos cérebros dos doentes. Em suma, os autores concluíram que o seu estudo confirmava o envolvimento do SNC em doentes com HNPP. Os lobos frontais parecem ser o local de predileção para o envolvimento do SNC.

Em 2016, Brandt et al. ^[26] realizaram outro estudo sobre o envolvimento da via ótica em HNPP. 20 pacientes com HNPP e 18 indivíduos saudáveis foram sujeitos a um exame neurológico e responderam a um questionário de avaliação da função visual (National Eye Institute's 39-item Visual Functioning Questionnaire). Todos os doentes demonstraram uma acuidade visual normal, no entanto, no questionário, reportaram uma visão periférica diminuída, em comparação com o grupo de controlo. Realizaram-se, também, tomografias de coerência óptica e foram avaliados os PEVs. Os autores verificaram o aumento da espessura da camada de fibras nervosas da retina na mácula e redução da espessura no hemisfério nasal, suportando as alterações da visão periférica detetadas no questionário. Além disso, a espessura diminuída no hemisfério nasal foi inversamente proporcional ao aumento da latência dos PEVs. As alterações, tanto na tomografia de coerência óptica, como nos PEVs, são, segundo os autores, sugestivas de alterações estruturais ou funcionais da mielina. Brandt et al. defenderam que as alterações observadas não se devem a um mecanismo de lesão por compressão ou trauma, como é característico no sistema nervoso periférico. O nervo óptico é suscetível a este mecanismo, por estar sujeito ao stress de repetidos movimentos oculares. No entanto, seria de esperar, neste caso, atrofia temporal por neurodegeneração retrógrada, algo que não foi detetado. Os grupos foram, também, sujeitos a RM. O volume encefálico total, bem como o da substância branca e cinzenta não diferiram entre os doentes e o grupo de controlo, ao contrário do que foi detetado por Chanson et al. ^[23]. Por fim, 6 pessoas saudáveis e 13 doentes foram estudados por espectroscopia por RM, que analisou as concentrações de colina, creatina e N-acetil aspartato no córtex visual e somatossensorial primário. Os pacientes com HNPP revelaram alterações neuroquímicas no córtex visual,

com uma diminuição das concentrações de creatina e N-acetil-aspartato. A perda de N-acetil-aspartato é geralmente interpretada como perda neural, por ser predominantemente localizada nos neurónios. Já a creatina é geralmente usada para normalizar as variações técnicas e/ou biológicas de outros metabolitos. A diminuição de ambos aponta, segundo os autores, para uma alteração da composição do córtex visual, por exemplo, durante o desenvolvimento embrionário, ao invés de um mecanismo de neurodegeneração. Concluíram que a deleção do PMP22 leva a alterações funcionais e metabólicas no SNC dos doentes com HNPP. Além disso, os achados encontrados apoiam um papel do PMP22 no desenvolvimento da substância branca do SNC.

Associação entre HNPP e Esquizofrenia

Desde o início do séc. XXI, inúmeros estudos têm demonstrado uma disfunção dos oligodendrócitos e da mielina na fisiopatologia da esquizofrenia [27-29]. Entre os genes identificados com expressão anormal, encontra-se o PMP22.

Em 2006, Dracheva et al. [30] quantificaram, por qPCR, a magnitude dos défices desses genes a partir de amostras do córtex cingulado, hipocampo, núcleo caudado e putámen de doentes diagnosticados com esquizofrenia e indivíduos de controlo. A expressão do PMP22 mRNA foi significativamente menor nos doentes esquizofrénicos que no grupo de controlo em todas as regiões estudadas, exceto no putámen. Os resultados demonstraram que o défice de PMP22, bem como de outros genes associados à mielina e oligodendrócitos, afeta múltiplas regiões implicadas na esquizofrenia, como o córtex cingulado anterior e o hipocampo. Além disso, os mesmos défices não estão presentes em regiões menos associadas à doença, como o putámen. Os autores sugeriram, também, que a comunicação entre o hipocampo e o córtex cingulado anterior pode estar perturbada pelo grupo de genes associados à mielina, como o PMP22.

Kunugi et al. [31] reportaram o caso de um homem diagnosticado com esquizofrenia e com uma microdeleção em 17p11.2. O indivíduo era assintomático relativamente a HNPP e não tinha uma história familiar clara da doença. Apesar da possível coincidência entre ambas as condições clínicas, existem várias evidências, segundo os autores, de uma correlação entre ambas as doenças, nomeadamente a expressão reduzida de PMP22, alterações nas funções dos oligodendrócitos e a ligação genética da esquizofrenia a 17p11.

Kunugi et al. referiram, assim, que o caso clínico suporta mais uma evidência para a relação causal entre a deleção do PMP22 e a esquizofrenia.

Em 2009, Kirov et al. ^[32] investigaram o envolvimento de “*copy number variants*” (CNV – variações estruturais caracterizadas por deleções, duplicações ou inserções de fragmentos do DNA que afetam um número considerável de pares de bases) de frequência rara (<1% da população) em 471 casos de esquizofrenia e 2792 indivíduos de controle. Os autores encontraram uma deleção do PMP22 em 2 pacientes e em nenhum controle. Após essa descoberta, reanalisaram os dados de dois estudos recentes sobre CNV na esquizofrenia e detetaram a deleção em 6 doentes de 4.618 (0.13%) e 6 controles de 36.092 (0,017%). Juntando os dados dos três estudos, a deleção do PMP22 é aproximadamente 10 vezes mais comum em doentes esquizofrênicos que no grupo de controle (0,15% contra 0,015%).

Crespi et al. ^[33] também estudaram o CNV e referiram a deleção em 17p12 como um fator de risco estatisticamente significativo para a doença.

Já Grozeva et al. ^[34] encontraram a mesma alteração com maior prevalência em doentes esquizofrênicos que no grupo controle, mas sem evidência estatisticamente significativa.

Em 2019, Endres et al. ^[35] apresentaram o caso de uma mulher de 55 anos com esquizofrenia desde os 30 anos, com um mau controle dos sintomas psiquiátricos, e HNPP, diagnosticada aos 35 anos, com queixas desde há 15 anos. Os autores colocaram a hipótese dos sintomas psiquiátricos se deverem, em parte, ao envolvimento do SNC em HNPP. Segundo eles, esta consideração é suportada pela resposta terapêutica insuficiente da doente aos neurolépticos e pelos défices cognitivos graves, alterações no eletroencefalograma, atrofia cerebral generalizada ligeira na RM e alterações neurometabólicas (glutamato elevado no córtex cingulado anterior e mio-inositol baixo no córtex cingulado anterior dorsal). Comparativamente a Chanson et al. ^[23], também encontraram atrofia cerebral e défices cognitivos. No entanto, a concentração de N-acetil aspartato e os PEVs foram normais. Além disso, não foi realizada a medição da anisotropia fraccionada.

Discussão

A descoberta de PMP22 mRNA no SNC do modelo animal (ratinhos), em 1992, abriu as portas para a investigação da expressão do gene no SNC do ser humano ^[5]. Atualmente, sabe-se que, tanto o mRNA como a proteína, são expressos na mielina do SNC das pessoas ^[15, 16], o que sugere um papel importante do gene na manutenção e função da mielina, não apenas no sistema nervoso periférico, como também no SNC. A confirmação da expressão do gene no SNC no Homem também explica a razão pela qual a redução da expressão do PMP22 pode ser relevante na fisiopatologia da esquizofrenia. O menor nível de mRNA nas regiões relevantes do SNC em doentes esquizofrênicos, assim como a maior prevalência da deleção do gene em doentes esquizofrênicos apoiam uma correlação entre o HNPP e a esquizofrenia ^[30, 32-34]. Os estudos que revelaram um prolongamento da latência dos PEVs nos doentes com HNPP sugerem uma disfunção da mielina da via ótica nesta doença ^[18, 24, 26]. Esta evidência é fortalecida pela diminuição da visão periférica, bem como pela redução da espessura na camada de fibras nervosas da retina no hemisfério nasal, resultados observados no estudo de Brandt et al. ^[26]. O envolvimento da via auditiva parece menos provável, com apenas um estudo a demonstrar um prolongamento da latência dos PEAs nos doentes ^[21]. Inúmeros estudos evidenciaram, através da RM, a presença de lesões multifocais hiperintensas na ponderação T2 no SNC ^[18-21, 25]. Estas alterações são sugestivas de desmielinização e consolidam a hipótese da mielina da substância branca estar envolvida em HNPP. A redução do volume de substância branca detetada em dois estudos também apoia o seu envolvimento ^[23, 35]. Apenas Brandt et al. ^[26] não evidenciaram alterações na substância branca. Além disso, a maior frequência das alterações na substância branca subcortical frontal sugere que o lobo frontal seja o local mais suscetível de envolvimento em HNPP ^[20, 25]. A baixa anisotropia fraccional, detetada em torno das lesões, por Wang et al. ^[25] indica modificações na microestrutura e demonstra que o envolvimento do SNC não se limita apenas aos focos hiperintensos detetados pela RM. A expressão silenciosa, na maioria dos casos do estudo de Sanahuja et al. ^[20] sugere que as lesões têm apenas impacto subclínico. No entanto, esta hipótese é contrariada por outros autores que encontraram défices cognitivos nos doentes com HNPP ^[23, 35]. A ausência de correlação entre o número de lesões, a idade do doente e a duração da doença obscurece a hipótese das lesões terem um padrão evolutivo ^[20, 25]. A redução dos níveis de creatina detetadas na substância branca e no córtex visual, bem como de N-acetil aspartato no córtex visual sugerem que, além de alterações estruturais

e funcionais, existem também alterações metabólicas no SNC dos doentes com HNPP [23, 26]. As alterações no córtex visual indicam, para os autores, uma alteração da composição do córtex visual, por exemplo, durante o desenvolvimento embrionário, ao invés de um mecanismo de neurodegeneração, como sucede no sistema nervoso periférico [26].

A literatura converge em vários aspetos, no entanto, existem ainda questões que requerem maior investigação e discussão. Apesar da descoberta de PMP22 mRNA e da proteína no SNC, é necessário equacionar qual o papel do gene no SNC em indivíduos saudáveis e com patologia neurológica. Além disso, é importante determinar se existe uma relação entre as lesões do SNC em doentes com HNPP e a expressão de PMP22 no SNC. Por outro lado, os estudos sobre o envolvimento da via ótica e auditiva não são consensuais e requerem uma análise mais profunda. Devido à dificuldade em obter amostras histológicas do encéfalo de doentes com HNPP, ainda não foi realizada nenhuma comparação imagio-patológica, pelo que as alterações na substância branca, a nível patológico, permanecem desconhecidas. Estudos sobre estas alterações são fundamentais. Para mais, os mecanismos responsáveis pela distribuição das lesões nos lobos frontais são desconhecidos e requerem maior investigação. É importante consolidar se existem ou não manifestações clínicas, em consequência do envolvimento do SNC, pois a informação recolhida não é consensual. Apesar da evidência de alterações neurometabólicas, recomenda-se uma análise a estas diferenças mais extensa, não só pelos estudos serem insuficientes, mas também para perceber de que modo estas alterações afetam o SNC de doentes com HNPP. Seria também interessante avaliar se existe uma prevalência superior de esquizofrenia em doentes com HNPP, comparativamente a indivíduos sem a neuropatia. Por fim, a maioria dos autores concorda que a principal limitação dos seus estudos é a pequena dimensão da amostra, em grande parte devido à raridade da doença. É imperativo realizar estudos com uma amostra maior, de forma a comprovar todos os resultados reportados na literatura e para consolidar os achados menos consensuais.

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, ao meu orientador, Prof. Dr. Mamede de Carvalho, pela oportunidade e apoio prestado ao longo da realização do trabalho. Agradeço a todos os meus amigos, bem como à minha mãe e irmão, por serem enormes fontes de motivação e boa disposição todos os dias. Por fim, uma nota especial para o meu pai, por me ter tornado na pessoa que sou hoje, fruto do seu carinho, brio e exigência.

Referências bibliográficas

- [1] - DANG, J., LIU, J., WANG, J., QIN, X., JIN, J., ZHOU, W. and LI, Z. (2011). Neurophysiological diagnosis of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Academic Journal of Second Military Medical University*, 31(7), pp.730-733.
- [2] - Mouton, P., Tardieu, S., Gouider, R., Birouk, N., Maisonnobe, T., Dubourg, O., Brice, A., LeGuern, E. and Bouche, P. (1999). Spectrum of clinical and electrophysiologic features in HNPP patients with the 17p11.2 deletion. *Neurology*, 52(7), pp.1440-1440.
- [3] - Foley C, Schofield I, Egton G, Bailey G, Chinnery PF, Horvath R. Charcot-Marie-Tooth disease in Northern England. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2012;83:572–573.
- [4] - Meretoja P, Silander K, Kalimo H, Aula P, Meretoja A, Savontaus ML. Epidemiology of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) in south western Finland. *Neuromuscul Disord*. 1997;7:529–532.
- [5] - Snipes GJ, Suter U, Welcher AA, Shooter EM. Characterization of a novel peripheral nervous system myelin protein (PMP-22/SR13) *J Cell Biol*. 1992;117:225–238.
- [6] - Gabriel JM, Erne B, Pareyson D, Sghirlanzoni A, Taroni F, Steck AJ. Gene dosage effects in hereditary peripheral neuropathy. Expression of peripheral myelin protein 22 in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies nerve biopsies. *Neurology*. 1997;49:1635–1640.
- [7] - Schenone A, Nobbio L, Mandich P, Bellone E, Abbruzzese M, Aymar F, Mancardi GL, Windebank AJ. Underexpression of messenger RNA for peripheral myelin protein 22 in hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Neurology*. 1997;48:445–449.
- [8] - Schenone A, Nobbio L, Caponnetto C, Abbruzzese M, Mandich P, Bellone E, Aymar F, Gherardi G, Windebank AJ, Mancardi G. Correlation between PMP-22 messenger RNA expression and phenotype in hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Ann Neurol*. 1997;42:866–872.
- [9] - Chance PF. Inherited focal, episodic neuropathies: hereditary neuropathy with liability to pressure palsies and hereditary neuralgic amyotrophy. *Neuromolecular Med*. 2006;8:159–174.
- [10] - Gabreels-Festen AA, Gabreels FJ, Joosten EM, Vingerhoets HM, Renier WO. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies in childhood. *Neuropediatrics*. 1992;23:138–143.
- [11] - Lenssen PP, Gabreels-Festen AA, Valentijn LJ, Jongen PJ, Van Beersum SE, Van Engelen BG, Van Wensen PJ, Bolhuis PA, Gabreels FJ, Mariman EC. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. Phenotypic differences between patients with the common deletion and a PMP22 frame shift mutation. *Brain*. 1998;121(8):1451–1458.
- [12] - Pareyson D, Scaiola V, Taroni F, Botti S, Lorenzetti D, Solari A, Ciano C, Sghirlanzoni A. Phenotypic heterogeneity in hereditary neuropathy with liability to pressure palsies associated with chromosome 17p11.2-12 deletion. *Neurology*. 1996;46:1133–1137.
- [13] - Bird TD. In: GeneReviews™ [Internet] Pagon RA, Adam MP, Bird TD, editor. Seattle: University of Washington, Seattle; 1993. Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsies; p. 2014.
- [14] - Parmantier, E., Cabon, F., Braun, C., D'Urso, D., Müller, H. and Zalc, B. (1995). Peripheral Myelin Protein-22 is Expressed in Rat and Mouse Brain and Spinal Cord Motoneurons. *European Journal of Neuroscience*, 7(5), pp.1080-1088.
- [15] - Ohsawa, Y., Murakami, T., Miyazaki, Y., Shirabe, T. and Sunada, Y. (2006). Peripheral myelin protein 22 is expressed in human central nervous system. *Journal of the Neurological Sciences*, 247(1), pp.11-15.
- [16] - Gasperi, R., Sosa, M., Naumowicz, Z., Hof, P., Notterpek, L., Davis, K., Buxbaum, J. and Elder, G. (2010). Peripheral myelin protein-22 is expressed in CNS myelin. *Translational Neuroscience*, 1(4).
- [17] - Miyazaki, T. (1995). Distribution of PASII/PMP22 and connexin 32 proteins in the peripheral nervous system. *Neurochemistry International*, 27(4-5), pp.377-383.

- [18] - Schneider, C., Reiners, K., Friedl, W., Ebner, R. and Toyka, K. (2000). Involvement of the visual pathway in hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Journal of Neurology*, 247(3), pp.222-223.
- [19] - Muneuchi, J., Tokunaga, Y., Kira, R., Gondo, K. and Hara, T. (2000). Acute disseminated encephalomyelitis in a female with hereditary neuropathy with susceptibility to pressure palsy. *Pediatric Neurology*, 22(4), pp.302-304.
- [20] - Sanahuja, J., Franco, E., Rojas-García, R., Gallardo, E., Combarros, O., Begué, R., Granés, P. and Illa, I. (2005). Central Nervous System Involvement in Hereditary Neuropathy With Liability to Pressure Palsies. *Archives of Neurology*, 62(12), p.1911.
- [21] - Tackenberg, B., Moller, J., Rindock, H., Bien, S., Sommer, N., Oertel, W., Rosenow, F., Schepelmann, K., Hamer, H. and Bandmann, O. (2006). CNS involvement in hereditary neuropathy with pressure palsies (HNPP). *Neurology*, 67(12), pp.2250-2252.
- [22] - Iwasaki, Y., Iguchi, H., Ikeda, K. and Kano, O. (2007). CNS INVOLVEMENT IN HEREDITARY NEUROPATHY WITH PRESSURE PALSIES (HNPP). *Neurology*, 68(23), pp.2046-2046.
- [23] - Chanson, J., Echaniz-Laguna, A., Blanc, F., Lacour, A., Ballonzoli, L., Kremer, S., Namer, I., Lannes, B., Tranchant, C., Vermersch, P. and de Seze, J. (2012). Central nervous system abnormalities in patients with PMP22 gene mutations: a prospective study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 84(4), pp.392-397.
- [24] - Knopp, M., Leese, R., Martin-Lamb, D. and Rajabally, Y. (2014). Optic and auditory pathway dysfunction in demyelinating neuropathies. *Acta Neurologica Scandinavica*, 130(1), pp.53-57.
- [25] - Wang, W., Song, C., Huang, L., Song, Q., Liang, Z., Wei, Q., Hu, J., Miao, Y., Wu, B. and Xie, L. (2015). DTI Study of Cerebral Normal-Appearing White Matter in Hereditary Neuropathy With Liability to Pressure Palsies (HNPP). *Medicine*, 94(43), p.e1909.
- [26] - Brandt, A., Meinert-Bohn, E., Rinnenthal, J., Zimmermann, H., Mikolajczak, J., Oberwahrenbrock, T., Papazoglou, S., Pfüller, C., Schinzel, J., Tackenberg, B., Paul, F., Hahn, K. and Bellmann-Strobl, J. (2016). Afferent Visual Pathway Affection in Patients with PMP22 Deletion-Related Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsies. *PLOS ONE*, 11(10), p.e0164617.
- [27] - Hakak, Y., Walker, J., Li, C., Wong, W., Davis, K., Buxbaum, J., Haroutunian, V. and Fienberg, A. (2001). Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(8), pp.4746-4751.
- [28] - Davis, K., Stewart, D., Friedman, J., Buchsbaum, M., Harvey, P., Hof, P., Buxbaum, J. and Haroutunian, V. (2003). White Matter Changes in Schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 60(5), p.443.
- [29] - Haroutunian, V., Katsel, P., Dracheva, S., Stewart, D. and Davis, K. (2007). Variations in oligodendrocyte-related gene expression across multiple cortical regions: implications for the pathophysiology of schizophrenia. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 10(04), p.565.
- [30] - Dracheva, S., Davis, K., Chin, B., Woo, D., Schmeidler, J. and Haroutunian, V. (2006). Myelin-associated mRNA and protein expression deficits in the anterior cingulate cortex and hippocampus in elderly schizophrenia patients. *Neurobiology of Disease*, 21(3), pp.531-540.
- [31] - Kunugi, H., Ozeki, Y., Mizuguchi, T., Hirabayashi, N., Ogawa, M., Ohmura, N., Moriuchi, M., Harada, N. and Matsumoto, N. (2008). A Case of Schizophrenia with Chromosomal Microdeletion of 17p11.2 Containing a Myelin-Related Gene PMP22. *The Open Psychiatry Journal*, 2(1), pp.1-4.
- [32] - Kirov, G., Grozeva, D., Norton, N., Ivanov, D., Mantripragada, K., Holmans, P., Craddock, N., Owen, M. and O'Donovan, M. (2009). Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 18(8), pp.1497-1503.
- [33] - Crespi, B. and Crofts, H. (2012). Association testing of copy number variants in schizophrenia and autism spectrum disorders. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 4(1).

[34] - Grozeva, D., Conrad, D., Barnes, C., Hurles, M., Owen, M., O'Donovan, M., Craddock, N. and Kirov, G. (2012). Independent estimation of the frequency of rare CNVs in the UK population confirms their role in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 135(1-3), pp.1-7.

[35] - Endres, D., Maier, S., Ziegler, C., Nickel, K., Riering, A., Berger, B., Lambeck, J., Fritz, M., Gläser, B., Stock, F., Dacko, M., Lange, T., Mader, I., Domschke, K. and Tebartz van Elst, L. (2019). Schizophrenia and Hereditary Polyneuropathy: PMP22 Deletion as a Common Pathophysiological Link?. *Frontiers in Psychiatry*, 10.